

## (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局(43) 国际公布日  
2006 年 4 月 6 日 (06.04.2006)

PCT

(10) 国际公布号  
WO 2006/034655 A1

- (51) 国际专利分类号<sup>7</sup>: A61K 31/7048, A61P 9/10, 9/06, 3/06 [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。黄瑜(HUANG, Yu) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。
- (21) 国际申请号: PCT/CN2005/001621
- (22) 国际申请日: 2005 年 9 月 29 日 (29.09.2005)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权: 200410040771.X  
2004 年 9 月 30 日 (30.09.2004) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 成都地奥制药集团有限公司(CHENGDU DI'AO PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 刘忠荣(LIU, Zhongrong) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。祁伟(QI, Wei) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。付铁军(FU, Tiejun) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。邹文俊(ZOU, Wenjun) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。及元乔(JI, Yuanqiao) [CN/CN]; 中国四川省成都市高新区高新大道创业路 26 号, Sichuan 610041 (CN)。李伯刚(LI, Bogang)
- (74) 代理人: 成都虹桥专利事务所(CHENGDU HONGQIAO PATENT LAW OFFICE); 中国四川省成都市永丰路 2 号超洋花园 3 幢 505 室, Sichuan 610041 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则 4.17 的声明:  
— 关于申请人有权申请并被授予专利 (细则 4.17 (ii))  
— 发明人资格 (细则 4.17 (iv))

[见续页]

(54) Title: STEROIDAL SAPONIN PHARMACEUTICAL COMPOSITION, ITS PREPARATION METHOD AND USE

(54) 发明名称: 甾体皂苷药物组合物及其制备方法和用途

(57) Abstract: The invention provides a steroidal saponin pharmaceutical composition comprising 5-25 parts by weight of furostanol saponins of general formula A and/or B and 1-10 parts by weight of spirostanol saponins of general formula C. The invention further provides the pharmaceutical composition preparation method, HPLC determination method for three steroidal saponins in it, and a use of the pharmaceutical composition for the manufacture of a medicament for preventing and treating cardiovascular diseases.

(57) 摘要:

本发明提供了一种甾体皂苷药物组合物, 它含有通式 A 和/或通式 B 的呋甾烷醇甾体皂苷, 通式 C 的螺甾烷醇甾体皂苷, 其重量比为: 呋甾烷醇甾体皂苷 5-25 份、螺甾烷醇甾体皂苷 1-10 份。本发明还提供了该甾体皂苷药物组合物的制备方法和其中三种甾体皂苷成分的 HPLC 鉴定方法, 以及其在制备预防和治疗心血管疾病的药物中的应用。

## 甾体皂苷药物组合物及其制备方法和应用

### 所属技术领域

本发明涉及一种甾体皂苷药物组合物，具体地说，是主要以黄山药、穿龙薯蓣为原料提取的甾体皂苷药物组合物。

### 背景技术

甾体皂苷 (steroidal saponins) 是植物中一类重要的生物活性物质，甾体皂苷的研究在天然产物化学中一直占有重要的地位。甾体皂苷的苷元是含有 27 个碳原子的螺甾烷醇或呋甾烷醇，大多数存在于单叶子植物的百合科，石蒜科和薯蓣科植物中。

黄山药又名姜黄、姜黄草、老虎姜、猴节莲，为薯蓣科薯蓣属植物黄山药 *Dioscorea panthaica* Prain et Burkill 的根茎，分布于西南及湖北、湖南等地；能理气止痛，解毒消肿，主治胃气痛，吐泻腹痛，跌打损伤，疮疡肿毒，毒蛇咬伤等症[国家中医药管理局《中华本草编委会》：中华本草（1999 年 上海科学技术出版社）第 8 卷，P8.247]。穿山龙为薯蓣科薯蓣属植物穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的根茎，又名穿山骨、穿地龙、狗山药、山常山、穿山骨、火藤根、姜黄、土山薯、竹根薯、铁根薯、雄姜、黄鞭、野山药、地龙骨、金刚骨、串山龙、过山龙，分布于东北、华北、西北及河南、湖北、山东、江苏、安徽、浙江、江西、四川等地；能祛风除湿，活血通络，止咳；主治风湿痹痛，肢体麻木，胸痹心痛，慢性气管炎，跌打损伤，疟疾，痈肿等症[国家中医药管理局《中华本草编委会》：中华本草（1999 年 上海科学技术出版社）第 8 卷，P238]。《中华人民共和国药典》1977 年版一部 P435-436 将穿山龙作为中药材收入其中。

目前，对黄山药、穿山龙的研究甚少。李伯刚等人从黄山药中分离并鉴定得到 2 种水难溶甾体皂苷：薯蓣皂苷 (dioscin) 和纤细皂苷 (gracillin) [李伯刚等，植物学报，1986，28 (4)：409-411]；董梅等人从黄山药中分离得到 3 种甾体皂苷[董梅等，药学报 2001，36 (1)：42-45]，其化学结构分别鉴定为，伪原薯蓣皂苷 (甾体皂苷 1)，DI-9 (甾体皂苷 6)；方一苇等人从穿山龙中分离得到 2 种水难溶甾体皂苷：薯蓣皂苷 (dioscin) 和纤细皂苷 (gracillin)，两种均为川龙冠心病的药用成分 [方一苇等，药学报 1982，17 (5)：388-391]；都述虎等人从穿山龙中分离得到从穿龙薯蓣总皂苷中分得 2 个甾体皂苷 (1 个水难溶性皂苷和 1 个水溶性皂苷)，其化学结构分别鉴定为纤细皂苷等 [都述虎等，药学报 2002，37 (4)：267-270]。另一项国内研究公开了薯蓣总皂苷提取物中含有的 8 种甾体皂苷的结构式[李伯刚，周正质. 中药新药与临床. 1994, 13(2):75-76]，治疗冠心病的有效成分为该八种甾体皂苷，其中包括薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷、原纤细皂苷、纤细皂苷等。中国专利 (申请号：CN02128119.X) 螺甾烷醇类甾体皂苷在制备治疗心血管疾病药物中的应用，公开了六种螺甾烷醇类甾体皂苷的新用途。中国专利 (申请号：CN 02112159.1) 具有治疗心肌缺血、心绞痛和心肌梗死功能的药物组合物，公开了含有薯蓣皂苷元的药物组合物的新用途。到目前为止仅从黄山药、穿山龙中分离鉴定了伪原薯蓣皂苷 (I)、薯蓣皂苷 (III)。

虽然上述资料公开了黄山药、穿山龙含有多对治疗心血管疾病有效的甾体皂苷，

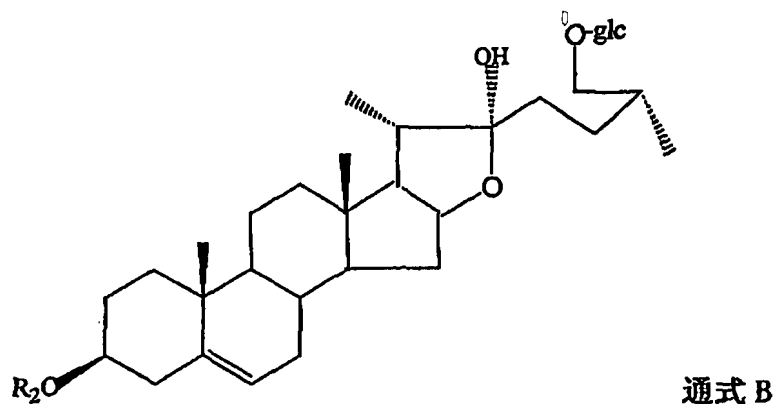
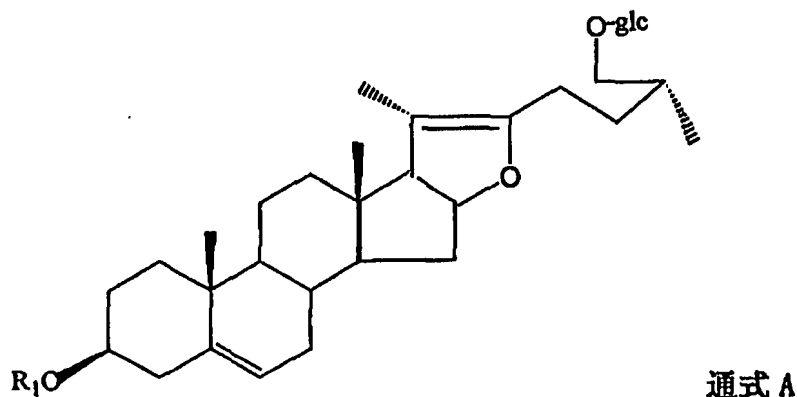
但仅仅是对两种植物中的有效成分的化学研究,由于有些成分含量极低,在制药上并无太大价值。众所周知,从植物中获得纯的有用价值的化合物极为困难,成本很高,同时也为了避免难以预料的副作用,一般不使用植物中的有效纯化合物,而使用药用植物提取物直接作用药用原料,成本低而且应用简便。但植物提取物的一个缺陷是,由于植物采收季节和产地不同都会造成有效成分含量的波动,同时,如果主要有效成分及其含量不清楚,都会给药品的质量控制造成很大困难,因此,为了保持植物药的质量稳定,清楚知道植物中各基本药效成分及其含量是很重要的,目前由于技术手段所限和甾体皂苷的种类复杂,至今未见确切的主要有效成分、含量及其纯度的报道。

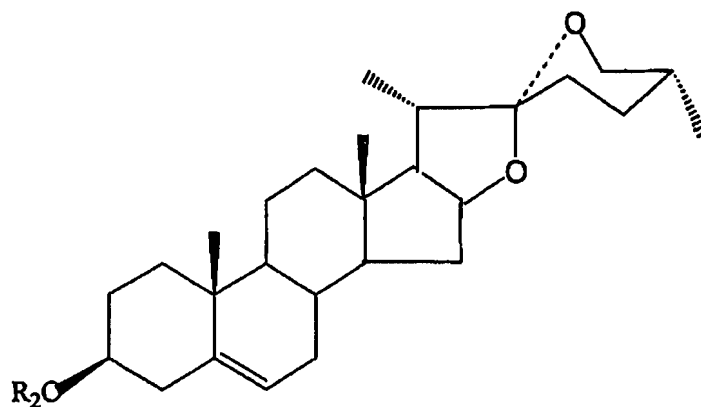
传统的制备甾体总皂苷的方法:用甲醇或乙醇热提,所得的醇溶液浓缩,除去甲醇或乙醇,再用氯仿等脱脂,然后用含水的正丁醇提取,所得的正丁醇溶液浓缩即得甾体总皂苷。以上工艺存在如下缺点:(1)收率低,成本高,(2)生产周期长,(3)需要大量的有机溶剂,生产上存在易燃易爆有毒的危险,同时带来严重的环境污染,(4)能耗大,由于正丁醇沸点高,造成浓缩干燥困难,(5)产品色泽差;且不适合工业化生产。按传统的工艺制备甾体总皂苷,各甾体皂苷含量不稳定,导致药效不稳定。

#### 发明内容

为了克服上述缺陷,本发明的技术方案是提供了一种甾体皂苷药物组合物,本发明的另一技术方案是提供了该甾体皂苷复合肥的制备方法和用途。

本发明提供了一种甾体皂苷药物组合物,它含有通式 A 和/或通式 B 的呋甾烷醇甾体皂苷,通式 C 螺甾烷醇类甾体皂苷,其重量配比为:呋甾烷醇甾体皂苷 5—25 份、螺甾烷醇类甾体皂苷 1—10 份,





通式 C

其中,通式 A 中,呋甾烷醇甾体皂苷为:  $R_1 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$ 、H、 $\text{-glc} \xrightarrow{4} \text{rha}$ 、 $\text{-glc} \xrightarrow{2} \text{rha}$

或  $\begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 3 & \text{glc} \\ 2 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$ ;

通式 B 中:  $R_2 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$  或  $\begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 3 & \text{glc} \\ 2 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$ ;

通式 C 中,  $R_3 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$ 、H、 $\text{-glc}$ 、 $\text{-glc} \xrightarrow{4} \text{rha}$ 、 $\text{-glc} \xrightarrow{2} \text{rha}$  或  $\begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 3 & \text{glc} \\ 2 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$ 。

进一步地,含有下列化合物: 通式 A 中,当  $R_1 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$  时,为伪原薯蓣皂苷

(I);  $R_1 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 3 & \text{glc} \\ 2 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$  时,为伪原纤细薯蓣皂苷(II); 通式 B 中,当  $R_2 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$

时,为原薯蓣皂苷(IV);  $R_2 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 3 & \text{glc} \\ 2 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$  时,为原纤细皂苷(V); 通式 C 中,

$R_3 = \begin{matrix} \text{-glc} & \begin{matrix} 2 & \text{rha} \\ 4 & \text{rha} \end{matrix} \end{matrix}$  时为薯蓣皂苷(III),

其中,伪原薯蓣皂苷(I)和/或原薯蓣皂苷(IV) 5—22 份原纤细皂苷(II)和/或原纤细皂苷(V) 1—5 份、薯蓣皂苷(III) 1—8 份。

更进一步地,含有伪原薯蓣皂苷(I) 5—20 份、伪原纤细皂苷(II) 1—3 份、薯蓣皂苷(III) 1—5 份。

更进一步地,含有伪原薯蓣皂苷(I) 12—18 份、伪原纤细皂苷(II) 1 份、薯蓣皂苷(III) 1.2—2.5 份。

所述的甾体皂苷来源于薯蓣科薯蓣属植物黄山药 *Dioscorea panthaica* Prain et Burkill、穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 的提取物。

其中,所述甾体总皂苷提取物中,甾体总皂苷含量大于 80%(w/w),甾体总皂苷以薯蓣皂苷计,其含量不少于 65%(w/w)。

其中,所述的提取物中含有伪原薯蓣皂苷(I)、伪原纤细皂苷(II)、薯蓣皂苷(III)三种甾体皂苷的含量之和不少于甾体总皂苷的 50%w/w。

所述的提取物具有如图 1 所示的 HPLC 指纹图谱,其中,指纹图谱的特征峰分别为:伪原薯蓣皂苷(I)保留时间:28.27min;伪原纤细皂苷(II)保留时间:29.5min;薯蓣皂苷(III)保留时间:57.10min。

色谱条件:色谱柱:Alltima C18 4.6×250mm,5μm,梯度洗脱,蒸发光散射检测器检测,漂移管温度 100℃,气体流速 2.0L/min。

所述的提取物是由如下方法制备:

a、以中药黄山药、穿山龙或新鲜采集的黄山药、穿山龙的根茎为原料,经切片或粉碎后,加水、甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇中的一种或任意两种或者多种溶剂以任意比例组成的混合溶液为溶媒提取,溶媒量为原料的 15—25 倍;

b、将 a 步骤制备的提取液冷却过滤、滤液通过吸附树脂柱、弃去流出液,用水洗至流出液至无色,弃去水洗液;

c、将 b 步骤的水洗后的吸附树脂柱用乙醇、甲醇、丙酮、50%~90%乙醇、30—80%含水甲醇或 60—95%含水丙酮中的一种或多种洗脱,收集洗脱液,浓缩;

d、将 c 步骤的浓缩液加 60—95%醇醇沉,过滤,收集滤液,浓缩,干燥,即得。

其中,所述的提取物的制备方法步骤 b 中:当提取液含甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇时,先减压浓缩,再冷却过滤。

所采用的溶剂提取法中,可选用水、甲醇、乙醇、正丁醇或者其他低级脂肪醇中的一种溶媒,也可以选用其中的任意两种或者多种溶剂以任意比例组成的混合溶媒,在室温下浸润提取或者用超声波振荡提取,或者在加热状态下浸润提取或回流提取。提取次数可以是一次,也可以是多次。

所采用的大孔树脂吸附法中,树脂可选用 HPD<sub>100</sub>、HPD<sub>300</sub>、LD<sub>140</sub>、D<sub>101</sub> 以及其他类型的大孔吸附树脂,或以上不同型号的大孔吸附树脂按一定比例混合,洗脱溶媒用水、甲醇、乙醇、丙酮、含水甲醇、含水乙醇或者含水丙酮中的一种或多种,洗脱时可以浓度洗脱,也可以梯度洗脱。

本发明药物组合物是由所述的甾体皂苷或提取物为活性成分,加上药学上可接受的辅料或辅料性成分制备而成的制剂。

其中,所述的制剂是:片剂、胶囊剂、软胶囊、颗粒剂、口服液、滴丸、注射剂。

本发明还提供了该药物组合物的制备方法,它包括如下步骤:

称取含有通式 A 和/或通式 B 的呋甾烷醇甾体皂苷,通式 C 螺甾烷醇类甾体皂苷,重量配比为:呋甾烷醇甾体皂苷 5—25 份、螺甾烷醇类甾体皂苷 1—5 份;混合,加入药学上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

本发明提供的药物组合物还可以由以下方法制备:

a、以中药黄山药、穿山龙或新鲜采集的黄山药、穿山龙的根茎为原料,经切片或粉

碎后,加水、甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇中的一种或任意两种或者多种溶剂以任意比例组成的混合溶液为溶媒提取,溶媒量为原料的15—25倍;

b、将a步骤制备的提取液冷却过滤、滤液通过吸附树脂柱、弃去流出液,用水洗至流出液至无色,弃去水洗液;

c、将b步骤的水洗后的吸附树脂柱用乙醇、甲醇、丙酮、50%~90%乙醇、30—80%含水甲醇或60—95%含水丙酮中含水甲醇或含水丙酮中的一种或多种洗脱,收集洗脱液,浓缩;

d、将c步骤的浓缩液加60—95%醇醇沉,过滤,收集滤液;

e、取d步骤所述的滤液,浓缩干燥,加入药物上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

e、取d步骤所述的滤液,浓缩干燥,加入药物上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

其中,步骤b中,当提取液含甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇时,先减压浓缩,再冷却过滤。

本发明还提供了该药物组合物在制备治疗和预防心脑血管疾病药物中的应用。其中,所述药物是治疗冠心病、心绞痛、心肌梗死、心律失常、高血脂或缺血性脑血管病的药物。

通过对本发明药物组合物中三个甾体皂苷成分的测定,药效稳定性高,疗效可靠,同时提供三个甾体皂苷成分的鉴定方法,可控性强,且本发明药物日服剂量300-600mg,服用剂量少,为临床提供了一种新的选择。

显然,根据本发明的上述内容,按照本领域的普通技术知识和惯用手段,在不脱离本发明上述基本技术思想前提下,还可以做出其它多种形式的修改、替换或变更。

以下通过实施例形式的具体实施方式,对本发明的上述内容再作进一步的详细说明。但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的范围。

#### 附图说明

图1原薯蓣皂苷标样、化合物1—8混合的HPLC分析谱图,图中1—8号峰分别对应化合物1—8;

图2实施例1的组合物的HPLC分析谱图,图中1号峰为化合物1,6号峰对化合物2,7号峰对应化合物9,8号峰对应化合物3,11号峰对应化合物5;

图3实施例2的组合物的HPLC分析谱图,图中1号峰为化合物1,6号峰对化合物2,7号峰对应化合物9,8号峰对应化合物3,10号峰对应化合物5;

图4实施例3的组合物的HPLC分析谱图,图中1号峰为化合物1,6号峰对化合物2,7号峰对应化合物9,8号峰对应化合物3,10号峰对应化合物5;

#### 具体实施方式

实施例1 本发明药物组合物的制备:

中药穿山龙的干燥根茎100kg,粉碎,用95%乙醇(1200L×3)回流,第一次3小时,第二、三次各2小时,滤过,合并提取液;回收乙醇,加水至2g/ml,冷藏24小时,

离心；上清液过 HPD<sub>300</sub> 吸附树脂柱，先用水洗至流出液无色后，用 70% 乙醇洗脱；接收 70% 乙醇洗脱部分，浓缩，将浓缩液加 75% 乙醇醇沉，过滤，收集滤液，浓缩，干燥，再经真空干燥即得穿山龙总甾体皂苷，收率为 2.32%。甾体总皂苷含量为 85% (w/w)。

#### 实施例 2 本发明药物组合物的制备

中药黄山的干燥根茎 100kg，切片，用 12 倍 (V/W) 水煎煮 4 次，第一次 3 小时，第二、三、四次各 2 小时，滤过，合并提取液；放至室温，离心；上清液过大孔吸附树脂柱 [HPD<sub>100</sub>/LD<sub>100</sub>=7: 3 (W/W)]，先用水洗至流出液无色后，再用 10% 乙醇洗脱，最后用 75% 乙醇洗脱；接收 75% 乙醇洗脱部分，浓缩，将浓缩液加 80% 乙醇醇沉，过滤，收集滤液，浓缩，干燥回收乙醇至无醇味，再经喷雾干燥即得黄山总甾体皂苷，收率为 1.15%。甾体总皂苷含量为 90% (w/w)。

#### 实施例 3 本发明药物组合物的制备

新鲜穿山龙的干燥根茎 400kg，切片，用 8 倍 (V/W) 水煎煮 3 次，第一次 3 小时，第二、三次各 2 小时，滤过，合并提取液；放至室温，离心；上清液过大孔吸附树脂柱 [HPD<sub>100</sub>/LD<sub>101</sub>=6: 4 (W/W)]，先用水充分正反洗后，再用 10% 乙醇洗脱，最后用 80% 乙醇洗脱；接收 80% 乙醇洗脱部分，浓缩，将浓缩液加 90% 乙醇醇沉，过滤，收集滤液，浓缩，回收乙醇至无醇味，再经喷雾干燥即得穿山龙总甾体皂苷，收率为 0.56%。甾体总皂苷为 95% (w/w)。

#### 实施例 4 本发明药物组合物中化合物的制备及鉴定

取实施例 1 粗提物 1278 g，分散于 11100 ml 水中，依次用乙酸乙酯 (7500 ml×4)、正丁醇 (7500 ml×5) 进行萃取，得乙酸乙酯萃取物 102 g 和正丁醇萃取物 503 g。取正丁醇部分 236 g 进行硅胶柱层析 (Φ10.5×52 cm, 2000 g)，氯仿-甲醇-水 (9: 1 : 0.1) 梯度洗脱，每瓶接收 500 ml 洗脱剂，共收集 160 份。Fr.16-21 析出化合物 8 (140 mg)，Fr.41-45 析出化合物 7 (427 mg)，Fr.56-65 析出化合物 6 (30g) Fr.94-104 析出化合物 5 (8.62 g)，即为本发明的甾体皂苷 (III)。Fr.113-127 合并为 E (26 g)，进行硅胶柱层析 (Φ6.5×71 cm, 800 g)，氯仿-甲醇 (5:1) 水饱和洗脱，E 过柱 Fr.14-20 合并为 B (4 g)，过 ODS 纯化得化合物 4 (1.3 g)。Fr.128-143 合并为 F (63 g)，进行硅胶柱层析 (Φ7×52 cm, 850 g)，氯仿-甲醇 (5:1) 水饱和洗脱，F 过柱 Fr.36-60 合并为 A (10 g)，ODS 纯化得化合物 3 (115mg)，F 过柱 Fr.61-68 合并为 B (11g)，ODS 纯化得化合物 9 (105mg)，即为本发明的甾体皂苷 (II)。F 过柱 Fr.69-78 合并为 C (10 g)，ODS 纯化得化合物 2 (2.89 g)，即为本发明的甾体皂苷 (I)。

柱层析用硅胶 (160-200 目, 200-300 目)，TLC 用 GF<sub>254</sub> 硅胶为青岛海洋化工厂产品，反向硅胶 ODS (Cosmosil 75C<sub>18</sub>-OPN) 为日本 Nacalai tesque 公司产品，反相高效硅胶板 RP-18 F<sub>254</sub> 为 Merck 产品。

经 MS、<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR、DEPT、HMQC、HMBC 等现代波谱学方法结合理化常数鉴定了它们的结构如下：

质谱仪为 Finnigan LCQ<sup>DECA</sup>；核磁共振仪为 Bruker AM-400，TMS 为内标。

化合物 9 (伪原纤细皂苷)

化合物 9 的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据分别与伪原薯蓣皂苷<sup>[3]</sup>和纤细皂苷<sup>[4]</sup>比较, 结果发现化合物 9 的 26-C 所接糖信号及苷元部分的化学位移与伪原薯蓣皂苷完全吻合, 而剩余糖的信号与纤细皂苷的糖信号完全吻合, 因此初步判断化合物 9 为原纤细皂苷在  $\text{C}_{20}\sim\text{C}_{22}$  脱去 1 分子水的产物 (即伪原纤细皂苷 (II))。

在 HMBC 谱中, 1-H-glc<sup>m</sup> ( $\delta_{\text{H}}$  4.83) 与苷元 26-C ( $\delta_{\text{C}}$  74.7) 相关; 1-H-rha<sup>n</sup> ( $\delta_{\text{H}}$  6.40), 1-H-glc<sup>m</sup> ( $\delta_{\text{H}}$  5.10) 分别与 2-C-glc' ( $\delta_{\text{C}}$  76.8), 3-C-glc' ( $\delta_{\text{C}}$  89.3) 相关, 1-H-glc' ( $\delta_{\text{H}}$  4.95) 与苷元 3-C ( $\delta_{\text{C}}$  77.7) 相关, 也证实了上述推测的糖的连接位置和顺序。

综上所述, 化合物 9 的结构鉴定为 26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-3 $\beta$ , 26-二醇-25(R)- $\Delta^{5,20(22)}$ -二烯-呋甾-3-O-[ $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)]-[ $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 即伪原纤细皂苷 (II)。

化合物 8 (延龄草次苷): 白色针状结晶。ESI-MS  $m/z$ : 577  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 415  $[\text{M}-\text{glc}+\text{H}]^+$ , 397  $[\text{M}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ , 1151  $[2\text{M}-\text{H}]^-$ , 575  $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):  $\delta$  1.11 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -21,  $J = 6.8$  Hz), 0.87 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0.80 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0.67 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -27,  $J = 4.6$  Hz) 显示薯蓣皂苷元的 4 个甲基质子信号。 $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ) 见表 1, 苷元部分与薯蓣皂苷元比较 C-3 由  $\delta$  71.7  $\rightarrow$  78.6, C-2 由  $\delta$  31.4  $\rightarrow$  30.2, C-4 由  $\delta$  42.3  $\rightarrow$  39.3, 说明苷元的 C-3 位接糖。化合物 8 的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据 (见 Table 3) 与文献<sup>[1,2]</sup>报道吻合。

化合物 7 (Progenin II: 3-O-[ $\alpha$ -L-鼠李吡喃糖(1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖-薯蓣皂苷元): 白色针状结晶。ESI-MS  $m/z$ : 723  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 577  $[\text{M}-\text{rha}+\text{H}]^+$ , 415  $[\text{M}-\text{rha}-\text{glc}+\text{H}]^+$ , 397  $[\text{M}-\text{rha}-\text{glu}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ , 721  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 575  $[\text{M}-\text{rha}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):  $\delta$  1.11 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -21,  $J = 6.9$  Hz), 0.88 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0.80 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0.66 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -27,  $J = 5.2$  Hz) 显示薯蓣皂苷元的 4 个甲基质子信号, 葡萄糖的端基质子  $\delta$  4.94 (1H, d,  $J = 7.7$  Hz) 表明葡萄糖为  $\beta$  构型, 鼠李糖端基质子  $\delta$  6.54 (1H, br, s) 表明鼠李糖为  $\alpha$  构型。化合物 7 的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据 (见 Table 3) 与文献<sup>[1,2]</sup>报道吻合。

化合物 6 (Progenin III: 3-O-[ $\alpha$ -L-鼠李吡喃糖(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-葡萄糖吡喃糖-薯蓣皂苷元): 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 723  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 577  $[\text{M}-\text{rha}+\text{H}]^+$ , 415  $[\text{M}-\text{rha}-\text{glc}+\text{H}]^+$ , 397  $[\text{M}-\text{rha}-\text{glc}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):  $\delta$  1.11 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -21,  $J = 7.0$  Hz), 1.02 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0.80 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0.66 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -27,  $J = 5.0$  Hz) 显示薯蓣皂苷元的 4 个甲基质子信号。 $\delta$  6.36 (1H, br, s) 表明鼠李糖的构型为  $\alpha$  型,  $\delta$  5.04 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz) 表明葡萄糖的构型为  $\beta$  型。化合物 6 的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据 (见 Table 3) 与文献<sup>[1,2]</sup>报道吻合。

化合物 5 (薯蓣皂苷 dioscin): 白色针状结晶。ESI-MS  $m/z$ : 891  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 869  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 577  $[\text{M}-\text{rha}-\text{rha}+\text{H}]^+$ , 437  $[\text{M}-\text{rha}-\text{rha}-\text{glc}+\text{Na}]^+$ , 903  $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ , 867  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 721  $[\text{M}-\text{rha}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ ):  $\delta$  1.74 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.60 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz) 分别显示 2 个鼠李糖的甲基质子信号,  $\delta$  6.37 (1H, br, s), 5.83 (1H, br, s) 显示两个鼠李糖的构型为  $\alpha$  型,  $\delta$  4.92 (1H, d,  $J = 6.4$  Hz) 显示葡萄糖的构型为  $\beta$  型,  $\delta$  1.11 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -21,  $J = 6.8$  Hz), 1.02 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 0.79 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0.66 (3H, d,  $\text{CH}_3$ -27,  $J = 4.9$  Hz) 分别显示薯蓣皂苷元的 4 个甲基质子信号。化合物 5 的  $^{13}\text{C}$  NMR 数据 (见 Table 4) 与文献<sup>[1]</sup>报道吻合。为薯蓣皂苷。



化合物 4 (3 $\beta$ , 26-二醇-(25R)  $\Delta^{5, 20(22)}$ -二烯-呋甾-26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷) 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 907 [M+Na]<sup>+</sup>, 885 [M+H]<sup>+</sup>, 723 [M-glc+H]<sup>+</sup>, 577 [M-glc-rha+H]<sup>+</sup>, 437 [M-glc-rha-glc+Na]<sup>+</sup>, 883 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N):  $\delta$  1.61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-21), 0.99 (3H, d, CH<sub>3</sub>-27,  $J$  = 6.4 Hz), 0.89 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.70 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18) 显示甾体皂苷元的 4 个甲基质子信号。  $\delta$  4.95 (1H, d,  $J$  = 7.5 Hz), 4.82 (1H, d,  $J$  = 6.1 Hz) 表明化合物 4 中的葡萄糖为  $\beta$  构型,  $\delta$  5.90 (1H, br, s) 表明化合物 4 中含有一个  $\alpha$  构型的鼠李糖; 化合物 4 的 <sup>13</sup>C NMR 数据 (见 Table 4), 苷元部分与化合物 7 比较 C-3 由  $\delta$  71.2  $\rightarrow$  78.3 说明除了 C-26 位接糖外, C-3 位也接糖, 化合物 4 的 <sup>13</sup>C NMR 数据与文献<sup>[4]</sup>报道吻合。

化合物 3 (26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖-3 $\beta$ , 26-二醇-(25R)- $\Delta^{5, 20(22)}$ -3-O- $\{[\alpha$ -L-(25R)-吡喃鼠李糖 (1 $\rightarrow$ 4)]- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷}) : 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 907 [M+Na]<sup>+</sup>, 885 [M+H]<sup>+</sup>, 723 [M-glc+H]<sup>+</sup>, 577 [M-glc-rha+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N):  $\delta$  1.62 (3H, s, CH<sub>3</sub>-21), 1.02 (3H, d, CH<sub>3</sub>-27,  $J$  = 6.5 Hz), 0.88 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.70 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18) 显示甾体皂苷元的 4 个甲基质子信号,  $\delta$  1.77 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz) 显示鼠李糖末端甲基质子信号; <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) 数据 (见 Table 4), 苷元部分同化合物 8, 化合物 3 的 NMR 数据与文献<sup>[5]</sup>报道吻合。

化合物 2 (伪原薯蓣皂苷): 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 1053 [M+Na]<sup>+</sup>, 723 [M-rha-glc+H]<sup>+</sup>, 577 [M-rha-glc-rha+H]<sup>+</sup>, 415 [M-rha-glc-rha-glc+H]<sup>+</sup>, 1029 [M-H]<sup>-</sup>, 883 [M-rha-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N):  $\delta$  1.61 (3H, s, CH<sub>3</sub>-21), 1.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 0.99 (3H, d, CH<sub>3</sub>-27,  $J$  = 6.8 Hz), 0.70 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18) 显示 4 个甲基质子信号,  $\delta$  1.74 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz), 1.60 (3H, d,  $J$  = 7.7 Hz) 分别显示 2 个鼠李糖的甲基质子信号,  $\delta$  6.37 (1H, br, s), 5.83 (1H, br, s) 表明两个鼠李糖的构型是  $\alpha$  型,  $\delta$  4.92 (1H, d,  $J$  = 6.9 Hz), 4.81 (1H, d,  $J$  = 7.7 Hz) 表明两个葡萄糖的构型是  $\beta$  型; 化合物 2 的 <sup>13</sup>C NMR 数据 (见 Table 4) 与文献<sup>[5]</sup>报道吻合。

化合物 1 (原薯蓣皂苷): 分离鉴定方法见李伯刚, 周正质. 中药新药与临床. 1994, 13 (2): 75-76。

表 1. 化合物 2-9 的 <sup>13</sup>C NMR 数据 (溶剂: C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

C	9	8	7	6	5	4	3	2
1	37.3	37.4(t)	37.4(t)	37.5(t)	37.5(t)	37.5(t)	37.5(t)	37.5(t)
2	29.9	30.2(t)	30.2(t)	30.1(t)	30.1(t)	30.2(t)	30.2(t)	30.1(t)
3	77.7	78.6(d)	78.3(d)	78.2(d)	77.8(d)	78.3(d)	78.3(d)	78.0(d)
4	38.4	39.3(t)	39.3(t)	38.9(t)	38.9(t)	39.3(t)	38.9(t)	38.9(t)
5	140.5	140.9(s)	140.9(s)	140.8(s)	140.8(s)	140.9(s)	140.8(s)	140.8(s)
6	121.6	121.7(d)	121.7(d)	121.7(d)	121.7(d)	121.7(d)	121.7(d)	121.8(d)
7	32.2	32.2(t)	32.2(t)	32.3(t)	32.3(t)	32.3(t)	32.4(t)	32.4(t)
8	31.2	31.6(d)	31.6(d)	31.6(d)	31.6(d)	31.4(d)	31.4(d)	31.4(d)
9	50.1	50.3(d)	50.3(d)	50.3(d)	50.3(d)	50.3(d)	50.2(d)	50.3(d)
10	36.9	37.0(s)	37.0(s)	37.1(s)	37.1(s)	37.0(s)	37.1(s)	37.1(s)
11	21.0	21.1(t)	21.1(t)	21.0(t)	21.1(t)	21.1(t)	21.2(t)	21.2(t)
12	39.4	39.9(t)	39.8(t)	39.8(t)	39.8(t)	39.6(t)	39.6(s)	39.6(t)
13	43.2	40.4(s)	40.4(s)	40.4(s)	40.4(s)	43.4(s)	43.4(s)	43.4(s)
14	54.7	56.6(d)	56.6(d)	56.6(d)	56.6(d)	54.9(d)	54.9(d)	54.9(d)

15	34.3	32.2(t)	32.2(t)	32.2(t)	32.2(t)	34.4(t)	34.5(t)	34.5(t)
16	84.3	81.1(d)	81.1(d)	81.1(d)	81.1(d)	84.4(d)	84.4(d)	84.4(d)
17	64.3	62.9(d)	62.9(d)	62.8(d)	62.9(d)	64.5(d)	64.4(d)	64.5(d)
18	13.9	16.3(q)	16.3(q)	16.3(q)	16.3(q)	14.1(q)	14.1(q)	14.1(q)
19	19.2	19.4(q)	19.4(q)	19.3(q)	19.3(q)	19.4(q)	19.4(q)	19.4(q)
20	103.4	42.0(d)	41.9(d)	41.9(d)	41.9(d)	103.5(s)	103.6(s)	103.5(s)
21	11.6	15.0(q)	15.0(q)	14.9(q)	15.0(q)	11.8(q)	11.8(q)	11.8(q)
22	152.2	109.2(s)	109.3(s)	109.2(s)	109.2(s)	152.4(s)	152.3(s)	152.4(s)
23	31.2	31.8(t)	31.8(t)	31.8(t)	31.8(t)	31.4(t)	31.4(t)	31.4(t)
24	23.5	29.2(t)	29.2(t)	29.2(t)	29.2(t)	23.7(t)	23.6(t)	23.7(t)
25	33.7	30.6(d)	30.6(d)	30.5(d)	30.5(d)	33.5(d)	33.5(d)	33.4(d)
26	74.7	66.8(t)	66.8(t)	66.8(t)	66.8(t)	74.9(t)	74.9(t)	74.9(t)
27	17.1	17.3(q)	17.3(q)	17.2(q)	17.2(q)	17.3(q)	17.3(q)	17.3(q)
C-3								
sugar								
art								
glc 1'	99.7	102.6(d)	102.7(d)	100.3(d)	100.2(d)	102.7(d)	100.3(d)	100.2(d)
(inner)2'	76.8	75.4(d)	75.5(d)	79.6(d)	78.1(d)	75.5(d)	79.6(d)	78.6(d)
3'	89.3	78.5(d)	76.7(d)	77.8(d)	76.8(d)	76.7(d)	77.8(d)	76.8(d)
4'	71.3	71.7(d)	78.2(d)	71.6(d)	78.7(d)	78.5(d)	71.7(d)	78.6(d)
5'	78.3	78.1(d)	77.1(d)	77.9(d)	77.9(d)	77.1(d)	77.7(d)	77.7(d)
6'	62.2	62.9(t)	61.5(t)	62.6(t)	61.3(t)	61.5(t)	62.6(t)	61.3(t)
rha 1"	102.0		102.4(d)		102.0(d)	102.4(d)		102.0(d)
(1→4)2"	72.5		72.8(d)		72.4(d)	72.8(d)		72.5(d)
3"	72.2		72.6(d)		72.8(d)	72.6(d)		72.8(d)
4"	73.9		74.0(d)		74.1(d)	74.0(d)		74.1(d)
5"	69.3		70.3(d)		69.4(d)	70.3(d)		69.5(d)
6"	18.5		18.5(q)		18.6(q)	18.5(q)		18.6(q)
rha 1'''	104.3			102.0(d)	102.9(d)		102.0(d)	102.9(d)
(1→2)	74.7			72.5(d)	72.4(d)		72.5(d)	72.5(d)
2'''								
3'''	78.3			72.8(d)	72.7(d)		72.8(d)	72.7(d)
4'''	71.3			74.1(d)	73.8(d)		74.1(d)	73.9(d)
5'''	77.4			69.4(d)	70.4(d)		69.5(d)	70.4(d)
6'''	62.2			18.6(q)	18.4(q)		18.7(q)	18.4(q)
C-26								
sugar								
art								
glc 1'''	104.7					104.9(d)	104.9(d)	104.9(d)
2'''	75.0					75.2(d)	75.2(d)	75.2(d)
3'''	78.5					78.6(d)	78.6(d)	78.5(d)
4'''	71.5					71.7(d)	71.7(d)	71.7(d)
5'''	78.4					78.2(d)	78.3(d)	77.9(d)
6'''	62.6					62.9(t)	62.8(t)	62.8(t)

通过上述方法，可分离并鉴定本发明药物组合中各化合物。

实施例 5 本发明药物组合物的质量控制

将 9 个已经结构鉴定的对照品混合进样通过 HPLC 分析,色谱条件: 色谱柱: Alltima C18 4.6×250mm,5 $\mu$ m, 梯度洗脱, 蒸发光散射检测器检测, 漂移管温度 100℃, 气体流速 2.0L/min。梯度洗脱表如下:

表 2 梯度洗脱表

	0(mim)	30(mim)	50(mim)	60(mim)	80(mim)
乙晴	15%	40%	40%	100%	100%
水	85%	60%	60%	0	100%

色谱图见附图 1。

将实施例 1、2、3 所得的组合物经 HPLC 分析, 色谱图分别见附图 1、2、3, 用外标两点法对数方程计算化合物 I、II、III 的重量百分含量, 见表 3。

表 3 化合物(I)、(II)、(III)的对甾体总皂苷的重量百分比

	化合物(I) %	化合物(II) %	化合物(III) %
实施例 1	59.8	4.7	5.7
实施例 2	63.8	4.8	6.8
实施例 3	58.4	6.8	9.5

通过对本发明组合物 20 批次的跟踪测试, 表明三个化合物在组合物中含量相对稳定, 故将三个化合物作为质量指标, 可控性强。见表 4:

表 4 各批次本发明组合物各甾体皂苷对甾体总皂苷的重量百分比

批号	原薯蓣皂苷(%)	伪原薯蓣皂苷(%)	伪原纤细皂苷(%)	化合物 3	薯蓣皂苷(%)
1	2.1	60.6	6.2	8.1	7.8
2	0.8	60.2	5.3	9.4	9.3
3	1.6	61.8	5.9	8.4	7.0
4	3.9	58.4	6.8	6.8	9.5
5	1.5	66.6	6.8	1.6	6.8
6	9.8	63.0	4.7	0.86	6.2
7	7.7	63.8	4.8	1.0	6.8
8	3.0	65.7	5.6	0.9	8.4
9	8.6	63.2	4.9	1.1	6.3
10	6.3	64.8	5.4	1.1	6.3
11	11.2	61.2	5.2	1.2	5.8
12	9.8	60.6	6.1	1.2	7.2
13	8.7	62.2	5.3	1.1	7.2
14	2.2	67.7	5.6	1.1	6.5
15	7.7	63.5	5.0	1.1	6.8
16	13.4	59.8	4.7	1.4	5.7
17	2.0	68.6	5.8	1.0	5.4
18	3.3	66.9	4.9	1.7	6.4
19	3.2	66.0	4.7	1.6	8.1
20	6.5	62.4	4.5	1.5	7.2
21	10.1	60.2	5.3	1.3	7.1
23	6.7	65.8	4.5	0.9	5.7
24	2.9	68.1	5.0	1.1	5.9

上述试验证明, 本发明药物组合物中伪原薯蓣皂苷(I)、伪原纤细皂苷(II)、薯蓣皂苷(III)均在恒定的比例中, 通过直接控制三个化合物的含量, 可以达到控制本发明药物质量的目的。在不同原料、不同提取工艺中, 上表中伪原薯蓣皂苷(I)与原薯蓣皂苷(IV)可以相互转换; 但是通过试验表明, 相同原料, 相同工艺的批次中, 伪原薯蓣皂苷(I)或原薯蓣皂苷(IV)的含量基本恒定, 伪原纤细皂苷(II)或原纤细皂苷(V)的含量基本恒定, 可以将其中含量较高的一种或二者之和作为质量控制成分之一, 即本发明药物组合物伪原薯蓣皂苷(I)和/或原薯蓣皂苷(IV)、伪原纤细皂苷(II)和/或原纤细皂苷(V)、薯蓣皂苷(III)均在恒定的比例中, 通过直接控制该三类化合物的含量, 可以达到控制本发明药物质量的目的。

#### 实施例 6 本发明药物组合物胶囊剂的制备

每粒胶囊的组成:

总甾体皂苷 (实施例 2 制得)	100g
淀粉	150g (共制成 1000 粒)

按上述比例取、淀粉, 混匀, 装胶囊。每粒装 250mg, 用于心脑血管疾病治疗, 口服, 每日三次, 每次 1~2 粒。二月为一疗程。

每粒含甾体皂苷以薯蓣皂苷计, 不少于 65.0 mg。

#### 实施例 7: 片剂的制备

片剂组成:

总甾体皂苷 (实施例 2 制得)	100g
HPMC LV100	30g
乳糖	70g
硬脂酸镁	1g (共制成 1000 片)

总甾体皂苷、HPMC、乳糖混匀, 以 75%乙醇为粘合剂制湿颗粒, 过 22 目筛, 50℃干燥 3h, 22 目筛整粒, 加入硬脂酸镁混匀压片, 每片重 0.15g。用于心脑血管疾病治疗, 口服, 每日三次, 每次 1~2 片。二月为一疗程。

每片含甾体皂苷以薯蓣皂苷计, 不得少于 65.0 mg。

#### 实施例 8 注射液的制备

注射液组成:	总甾体皂苷	50g
	吐温 80	10ml
	氯化钠	8g (共制成 1000ml)

总甾体皂苷, 加 10%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调 PH 至 7.0~7.5, 冷藏滤过, 加吐温-80, NaCl, 加注射用水至 1000ml, G<sub>3</sub>垂熔漏斗(玻璃)滤过, 分装, 灌封, 100℃流通蒸气灭菌 30min 即得。用于心脑血管疾病治疗, 皮下注射, 每日二次, 每次 1~2ml。二月为一疗程。

每支含甾体皂苷以薯蓣皂苷计, 不得少于 65.0 mg。

软胶囊、滴丸可按常规方法, 加入常用基质制备。

以下通过药效学试验证明本发明药物组合物的有益效果。

试验例 1 伪原纤细皂苷(II)对大鼠急性心肌梗死的影响:

使用实施例 4 所得伪原纤细皂苷(II) 的进行了以下相关药理试验:

取 Wistar 大鼠, 180—220g/只, 随机分为 3 组, 即对照组、伪原纤细皂苷高、低剂量组, 每组 12 只。对照组灌胃给予蒸馏水, 其余各组按表中高剂量 (3 mg/kg)、低剂量 (1.5 mg/kg) 分别灌胃给予相应药液 (均以蒸馏水配制)。每天给药 1 次, 连续给药一周。末次给药 1h 后, 氨基甲酸乙酯 (Urathan, 1g/kg) 腹腔麻醉大鼠, 仰位固定, 沿胸骨中线剪开动物皮肤, 在胸骨左缘 3—5 肋开口, 迅速挤出心脏后, 立即结扎左心冠状动脉前降支根部, 将心脏放回胸腔, 关闭胸腔并缝合恢复自主呼吸。结扎 3h 后结束试验, 心脏结扎线以下横切 5 片, 硝基四氮唑蓝染色, 采用多媒体彩色病理图分析系统 (MPIAS-500), 以固定象距测量正常心肌及梗塞心肌面积, 观察心肌梗塞程度, 结果进行统计学处理 (t 检验), 结果见表 4。

表 4 伪原纤细皂苷(II)对心肌缺血致心肌梗塞的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 mg/kg	梗塞心肌面积 mm <sup>2</sup>	梗塞区重量 g	梗塞区占心室 比 (%)	梗塞区占全心 脏比 (%)
对照组		112.23±9.46	0.301±0.055	32.9±3.1	28.6±1.5
高剂量组	3	80.56±7.69**	0.227±0.032**	24.5±2.6**	20.7±1.9**
低剂量组	1.5	91.31±11.49*	0.241±0.045*	28.1±1.9*	25.2±2.3*

注: 与模型组比较, \*P<0.05 \*\*P<0.01

表 4 结果显示, 与模型组比较, 化合物 (II) 高、低剂量组大鼠梗塞心肌面积、梗塞区重量、梗塞区占心室比以及梗塞区占全心比均明显降低 (分别 P<0.01 和 P<0.05), 且呈量效关系, 说明本发明新化合物伪原纤细皂苷 (II) 具有明显减轻心肌梗塞程度, 缩小梗塞面积, 减轻梗塞区重量, 对心肌缺血有明显的保护作用。

上述药效试验说明, 本发明药物组合物中的新化合物伪原纤细皂苷 (II) 不仅仅是新的发现, 且实验充分证明该新化合物具有药效, 可单独用于制剂使用, 药效明确。

试验例 2 本发明药物组合物治疗心绞痛, 对血脂、血小板聚集功能的影响

临床共观察胸痹 (心绞痛) 患者 1084 例患者, 采用随机、对照、双盲法。随机分别给与 A1、A2、A3、A4、复方丹参片或硝酸异山梨酯。

从性别、年龄、病程、合并症等几个方面, 对参加服用药物的病例, 进行了均衡性 (可比性) 检验。检验结果表明 A1、A2、A3、A4 胶囊组和复方丹参片组与硝酸异山梨酯组病人之间在性别、年龄、病程和合并症方面没有显著差异, 具有可比性。

A1、A2、A3、A4、B、C 六药均装入胶囊, 外观一致。五组药物均口服, 每次 1 粒, 每天 3 次, 五药均以 8 周为一疗程。在服上述六种药物期间, 病人停用一切对冠脉血流、血脂及血压有影响的药物。在病情急需时, 可临时加用, 一旦病情好转则停药, 并记录用药量。

最后揭盲: A1、A2、A3 为实施例 1、2、3 组合物按实施例 6 的方法制得胶囊, A4 为老工艺组合物按实施例 6 的方法制得胶囊, A1、A2、A3、A4 每粒胶囊中总皂苷

含量相同，剂量每次 200mg，每天 3 次；B 为复方丹参片，剂量每次 3 片，每天 3 次；C 为硝酸异山梨酯，剂量每次 5 mg，每天 3 次。

接受治疗者用药前停用对冠性病有效的药物 3 天，进行血、尿常规，肝、肾功能，血脂分析，静息心电图和负荷试验。疗程结束，全部复查以上各项指标。

治疗期间停用降压、降脂、扩张冠状动脉药物，仅对心绞痛发作频繁或严重心率失常患者临时给以硝酸甘油类药物，并记录停减量。

疗效评定标准：按 1979 年全国中西医结合防治冠心病、心绞痛心律失常研究座谈会修订的《冠心病心绞痛及心电图疗效评定标准》进行评定。

结果见表 5、表 6：

表 5 五组药物对心绞痛疗效的比较

组别	总例数	显效例数	%	有效例数	%	无效例数	%	总有效%
A1 组	178	72	40.4	86	48.3	20	10.1	89.9
A2 组	179	74	41.3	88	49.2	17	9.5	90.5
A3 组	178	71	39.9	90	50.6	17	9.6	90.4
A4 组	258	99	38.4	117	45.3	42	16.3	83.7
复方丹参片	123	34	27.6	44	35.8	45	36.6	63.4
硝酸异山梨酯	168	37	22.0	80	47.6	51	30.4	69.6

经 Ridit 分析，A1、A2、A3 组分别与 B 组、A1、A2、A3 组分别与 C 组比较，均  $P<0.01$ 。 $\chi^2$  分析比较 A1、A2、A3 组分别和 B 组显效率， $P<0.05$ ；A1、A2、A3 组分别组和 C 组显效率比较， $P<0.01$ 。表明实施例 1、2、3 的本发明组合物胶囊对心绞痛的疗效均优于复方丹参片 (B) 和硝酸异山梨酯 (C)。对缓解心绞痛症状总有效率为 89.9%、90.5%、90.4%，疗效确切，即证明通过控制三个成分，达到了有效、稳定的药效。

用本发明的制备方法与常规方法相比，成本降低 35% 以上，收率提供 13%，在相同原料用量，经 258 例临床观察，采用本发明药物药效提高 5% 以上。

对心肌缺血的疗效 8 周疗程，本发明药物组合物对心肌缺血疗效的比较，见表 6。

表 6 五组药物对心肌缺血疗效的比较

组别	总例数	显效例数	%	有效例数	%	无效例数	%	总有效%
A1 组	132	41	31.1	31	23.5	60	45.4	55.5
A2 组	132	42	31.8	32	24.2	58	43.9	56.0
A3 组	131	41	31.1	31	23.7	59	45.0	54.8
A4 组	258	76	29.4	58	22.5	124	48.1	51.9
复方丹参片	57	10	17.5	12	21.1	35	61.4	38.6
硝酸异山梨酯	85	25	29.4	20	23.5	38	44.7	52.9

经 Ridit 分析，A1、A2、A3 组分别与硝酸异山梨酯组对心肌缺血的疗效无显著性差异（均  $P>0.05$ ），但 A1、A2、A3 组优于复方丹参片，均  $P<0.01$ 。 $\chi^2$  分析比较 A1、A2、A3 组显效率分别优于复方丹参片， $P<0.05$ ；A1、A2、A3 组显效率分别与硝酸异山梨酯无显著差异，均  $P>0.05$ 。表明实施例 1、2、3 的本发明组合物胶囊对心绞痛的

疗效均优于复方丹参片 (B), 与硝酸异山梨酯 (C) 等效。对静息心电图 ST-T 段总有效率为 55.5%、56.0%、54.8%, 疗效确切, 即证明通过控制三个成分, 达到了有效、稳定的药效。本发明组合物疗效比按老工艺提取的组合物疗效提高 5% 以上。

**对血脂的作用** 治疗前有高胆固醇血症者 164 例, 高甘油三脂血症 162 例, 治疗后高胆固醇患者中有 78 例恢复正常, 高甘油三脂患者中有 87 例恢复正常。血胆固醇由治疗前  $6.8 \pm 1.1 \text{ mmol/L}$  降至治疗后  $6.3 \pm 1.1 \text{ mmol/L}$ , 血甘油三脂由治疗前  $2.4 \pm 0.8 \text{ mmol/L}$  降至治疗后  $1.9 \pm 0.7 \text{ mmol/L}$ , 经 t 检验, 差别有非常显著意义 ( $P < 0.01$ )。

**对血小板聚集功能的影响** 该药对二磷酸腺苷 (ADP) 和肾上腺素诱导的血小板聚集均有明显影响, ADP 使聚集率有治疗前  $68\% \pm 15\%$  降至治疗后  $60\% \pm 15\%$ , 肾上腺素使聚集率由治疗前  $73\% \pm 15\%$  降至治疗后  $64\% \pm 12\%$ , 经 t 检验, 差别有非常显著意义 ( $P < 0.01$ )。

本发明药物组合物对冠心病临床症状改善:

表 7 本发明药物组合物胶囊治疗前后主要症状改变

	总例数	显效	有效	无效	加重	显效率(%)	总有效率(%)
胸闷	244	112	212	12	0	46	87
心悸	225	123	193	31	1	55	86
气短	263	104	203	59	1	40	77
乏力	226	68	155	69	2	30	68
头晕	206	83	147	58	1	40	71
头痛	168	58	117	49	2	34	70

**不良反应** 本组 826 例在服药期间有头晕 5 例, 胃腹部不适 9 例, 头痛 2 例, 面部发热 1 例, 均不影响治疗。治疗前后所作血、尿常规, 肝、肾功能结果均在正常范围内。

通过上述制备工艺、结构测定、定量控制及药效学试验说明, 本发明药物组合物中的三种化合物伪原薯蓣皂苷 (I)、伪原纤细皂苷 (II)、薯蓣皂苷 (III) 同时进行控制, 有效的控制质量, 提高药效及药物的稳定性, 药物服用剂量小, 使用方便。

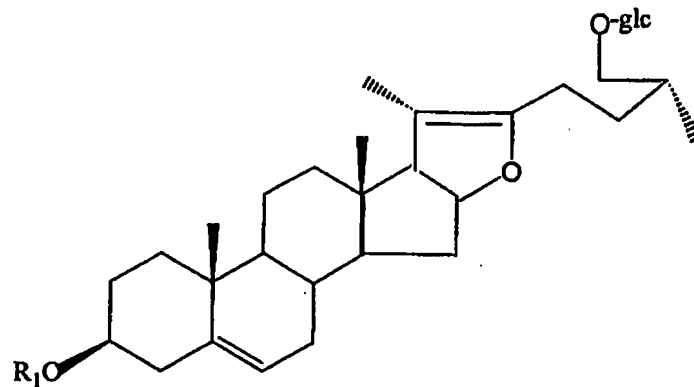
#### 参考文献

1. P. K. AGRAWAL, D. C. JAIN, R. K. GUPTA. et al. CARBON-13 NMR SPECTROSCOPY OF STEROIDAL SAPOGENINS AND STEROIDAL SAPONINS. *Phytochemistry*, 1985, 24 (11): 2479-2496.
2. 徐成基. 中国薯蓣资源甾体激素药源植物的研究与开发. 四川科学技术出版社, 2000.
3. Mei Dong et al TWO novel furostanol saponins from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* Prain et Burkill and their cytotoxic activity. *Tetrahedron*, 2001, 57, 501-506.
4. Zhou Zhong Liang, Rita Aquino, Francesco et al. Oligofurostanosides from *Asparagus cochinchinensis*. *Plant medica*. 1988, 50 (4): 344-346.
5. 董梅, 吴立军, 陈泉等. 黄山药中甾体皂苷的分离与鉴定. *药学学报*, 2001, 36(1): 42-45.
6. 都述虎, 刘文英, 付铁军等. 穿龙薯蓣总皂苷中甾体皂苷的分离与鉴定. *药学学报*, 2002, 37 (4): 267-270.

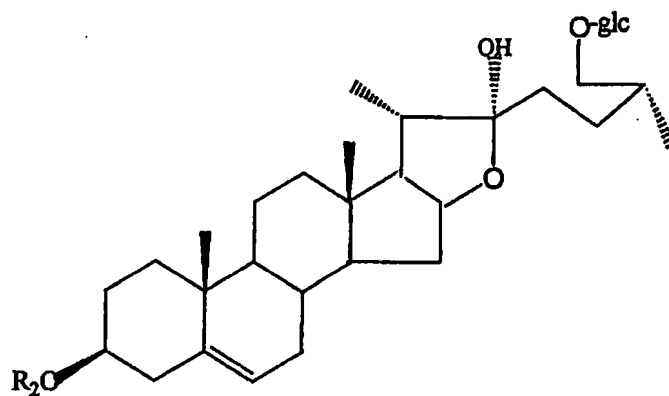
# 权利要求书

1、一种甾体皂苷药物组合物，其特征在于：

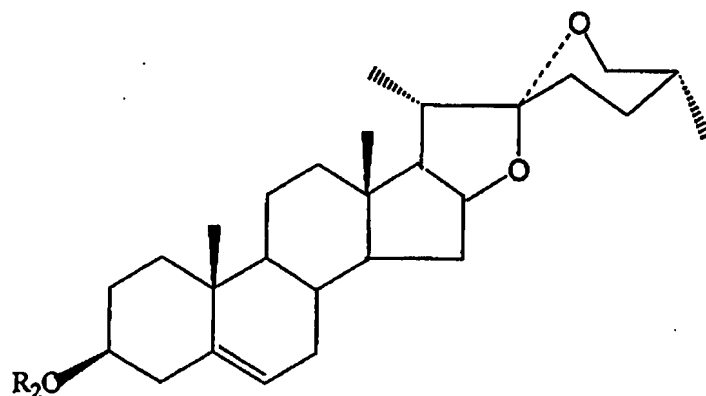
它含有通式 A 和/或通式 B 的呋甾烷醇甾体皂苷，通式 C 螺甾烷醇类甾体皂苷，其重量配比为：呋甾烷醇甾体皂苷 5—25 份、螺甾烷醇类甾体皂苷 1—10 份，



通式 A



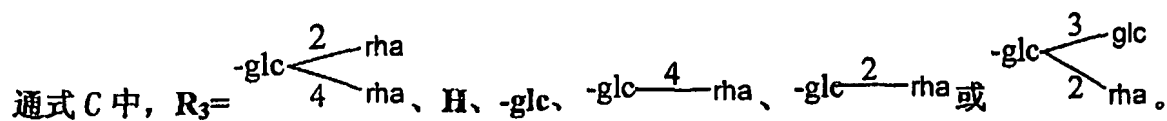
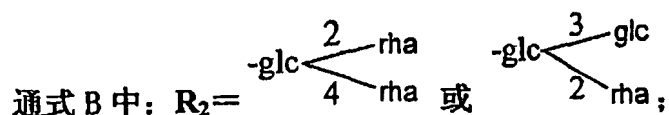
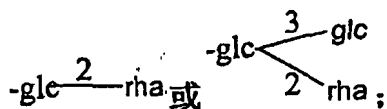
通式 B



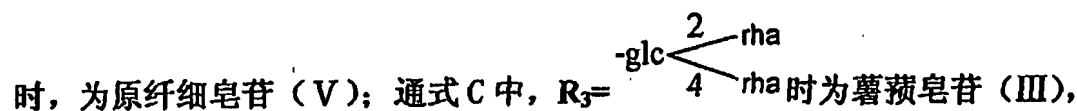
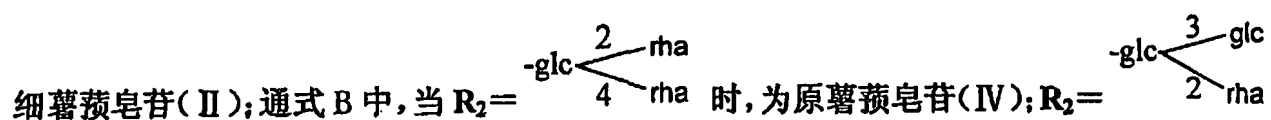
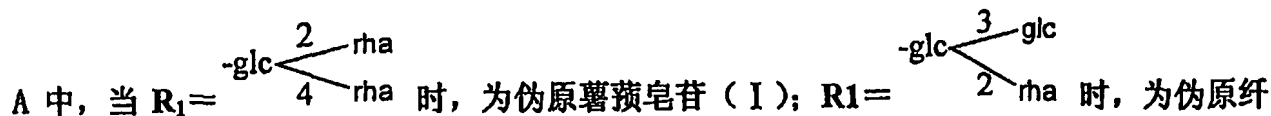
通式 C

其中，通式 A 中，呋甾烷醇甾体皂苷为： $R_1 = \begin{matrix} & 2 & \text{rha} \\ -\text{glc} & & \\ & 4 & \text{rha} \end{matrix}$ 、H、 $-\text{glc}-4-\text{rha}$ 、





2、根据权利要求 1 所述甾体皂苷药物组合物，其特征在于：含有下列化合物：通式



其中，伪原薯蓣皂苷 (I) 和/或原薯蓣皂苷 (IV) 5—22 份、伪原纤细皂苷 (II) 和/或原纤细皂苷 (V) 1—5 份、薯蓣皂苷 (III) 1—8 份。

3、根据权利要求 2 所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：含有伪原薯蓣皂苷 (I) 5—20 份、伪原纤细皂苷 (II) 1—3 份、薯蓣皂苷 (III) 1—5 份。

4、根据权利要求 3 所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：含有伪原薯蓣皂苷 (I) 12—18 份、伪原纤细皂苷 (II) 1 份、薯蓣皂苷 (III) 1.2—2.5 份。

5、根据权利要求 1-4 任一项所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：所述的甾体皂苷来源于薯蓣科薯蓣属植物黄山药 *Dioscorea panthaica Prain et Burkill*、穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica Makino* 的提取物。

6、根据权利要求 5 所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：所述提取物中，甾体总皂苷以薯蓣皂苷计，其含量不少于 65%(w/w)。

7、根据权利要求 5 或 6 所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：所述的提取物中含有伪原薯蓣皂苷 (I)、伪原纤细皂苷 (II)、薯蓣皂苷 (III) 三种甾体皂苷的含量之和不少于甾体总皂苷的 50%w/w。

8、根据权利要求 5、6 或 7 所述的甾体皂苷药物组合物，其特征在于：所述的提取物具有如图 1 所示的 HPLC 指纹图谱，其中，指纹图谱的特征峰分别为：伪原薯蓣皂苷 (I) 保留时间：28.27min；伪原纤细皂苷 (II) 保留时间：29.5min；薯蓣皂苷 (III) 保留时

间: 57.10min。

色谱条件: 色谱柱: Alltima C18 4.6×250mm, 5μm, 梯度洗脱, 蒸发光散射检测器检测, 漂移管温度 100℃, 气体流速 2.0L/min。

9、根据权利要求 5~8 任一项所述的甾体皂苷药物组合物, 其特征在于: 所述的提取物是由如下方法制备:

a、以中药黄山药、穿山龙或新鲜采集的黄山药、穿山龙的根茎为原料, 经切片或粉碎后, 加水、甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇中的一种或任意两种或者多种溶剂以任意比例组成的混合溶液为溶媒提取, 溶媒量为原料的 15—25 倍;

b、将 a 步骤制备的提取液冷却过滤、滤液通过吸附树脂柱、弃去流出液, 用水洗至流出液至无色, 弃去水洗液;

c、将 b 步骤的水洗后的吸附树脂柱用乙醇、甲醇、丙酮、50%~90%乙醇、30—80%含水甲醇或 60—95%含水丙酮中的一种或多种洗脱, 收集洗脱液, 浓缩;

d、将 c 步骤的浓缩液加 60—95%醇醇沉, 过滤, 收集滤液, 浓缩, 干燥, 即得。

10、根据权利要求 9 所述的甾体皂苷药物组合物, 其特征在于: 所述的提取物的制备方法步骤 b 中: 当提取液含甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇时, 先减压浓缩, 再冷却过滤。

11、根据权利要求 1-10 任一项所述的甾体皂苷药物组合物, 其特征在于: 它是由所述的甾体皂苷或黄山药、穿山龙提取物为活性成分, 加上药学上可接受的辅料或辅料性成分制备而成的制剂。

12、根据权利要求 11 所述的甾体皂苷药物组合物, 其特征在于: 所述的制剂是: 片剂、胶囊剂、软胶囊、颗粒剂、口服液、滴丸、注射剂。

13、一种制备权利要求 1-12 任一项所述的药物组合物的方法, 它包括如下步骤:

称取含有通式 A 和/或通式 B 的呋甾烷醇甾体皂苷, 通式 C 螺甾醇类甾体皂苷, 重量配比为: 呋甾烷醇甾体皂苷 5—25 份、螺甾烷醇类甾体皂苷 1—5 份; 混合, 加入药学上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

14、一种制备权利要求 1-12 任一项所述的药物组合物的制备方法, 它包括如下步骤:

a、以中药黄山药、穿山龙或新鲜采集的黄山药、穿山龙的根茎为原料, 经切片或粉碎后, 加水、甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇中的一种或任意两种或者多种溶剂以任意比例组成的混合溶液为溶媒提取, 溶媒量为原料的 15—25 倍;

b、将 a 步骤制备的提取液冷却过滤、滤液通过吸附树脂柱、弃去流出液, 用水洗至流出液至无色, 弃去水洗液;

c、将 b 步骤的水洗后的吸附树脂柱用乙醇、甲醇、丙酮、50%~90%乙醇、30—80%含水甲醇或 60—95%含水丙酮中含水甲醇或含水丙酮中的一种或多种洗脱，收集洗脱液，浓缩；

d、将 c 步骤的浓缩液加 60—95%醇醇沉，过滤，收集滤液；

e、取 d 步骤所述的滤液，浓缩干燥，加入药物上可接受的辅料或辅助性成分制备成药学上常用的制剂。

15、根据权利要求 14 所述的药物组合物的制备方法，其特征在于：步骤 b 中，当提取液含甲醇、乙醇、正丁醇或其它低脂肪醇时，先减压浓缩，再冷却过滤。

16、权利要求 1-12 任一项所述的药物组合物在制备治疗和预防心脑血管疾病药物中的应用。

17、权利要求 16 所述的用途，其特征在于：在制备治疗和预防治疗冠心病、心绞痛、心肌梗死、心律失常、高血脂或缺血性脑血管病的药物中的应用。

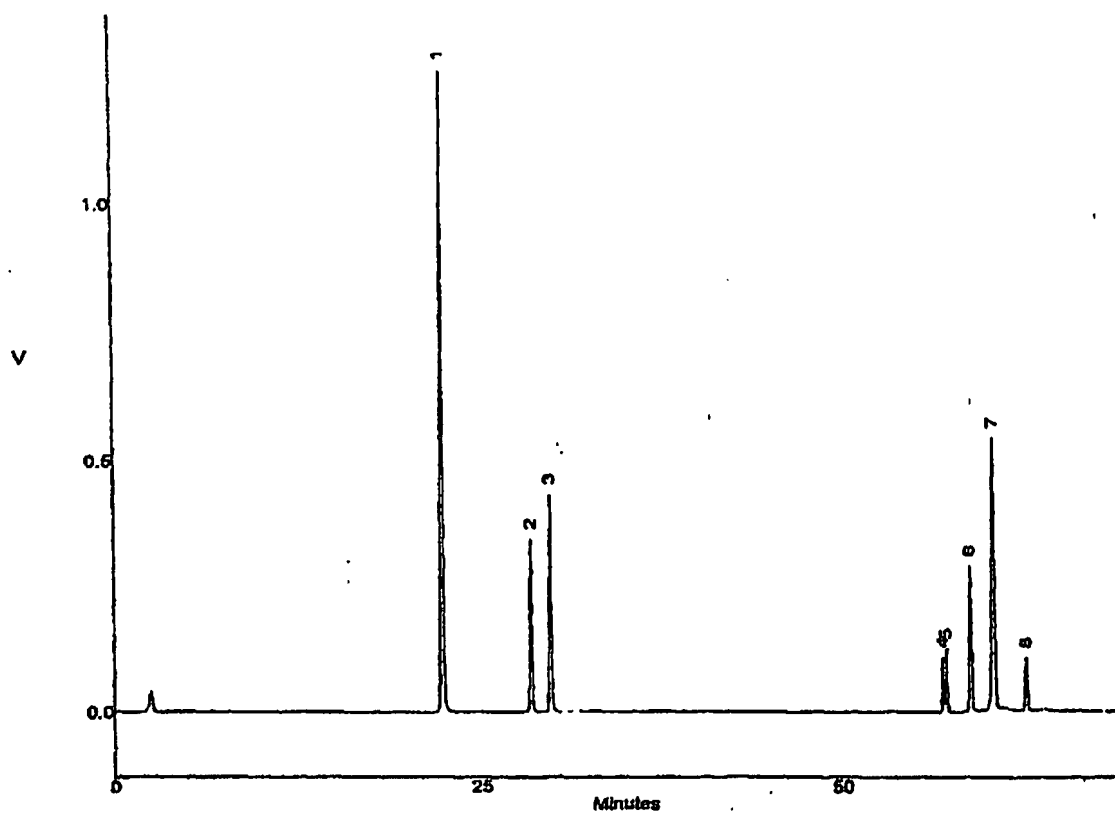


图 1

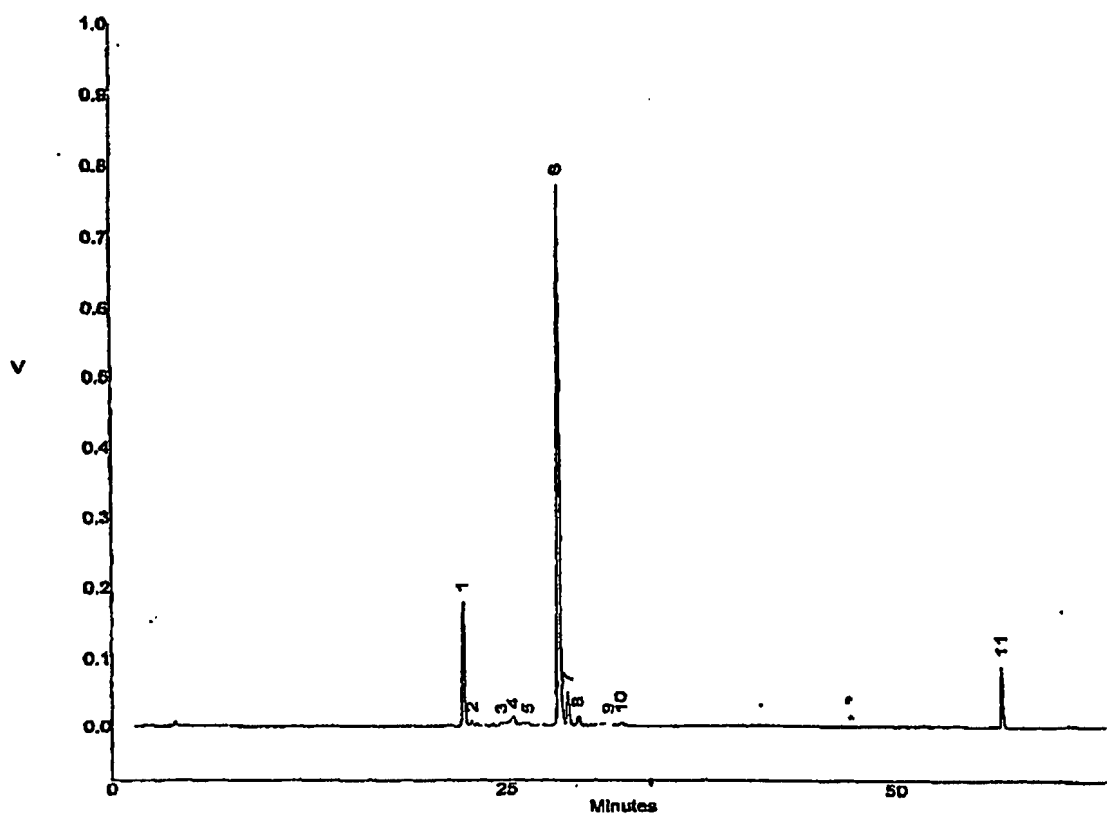


图 2

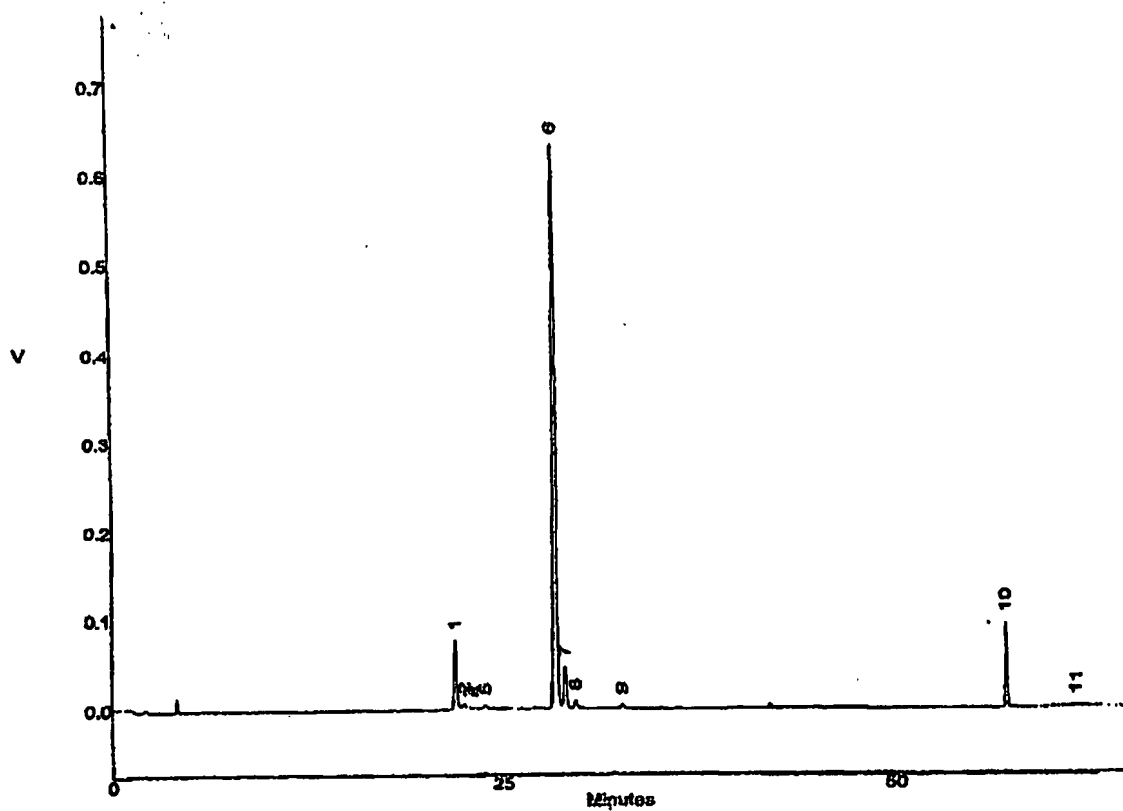


图 3

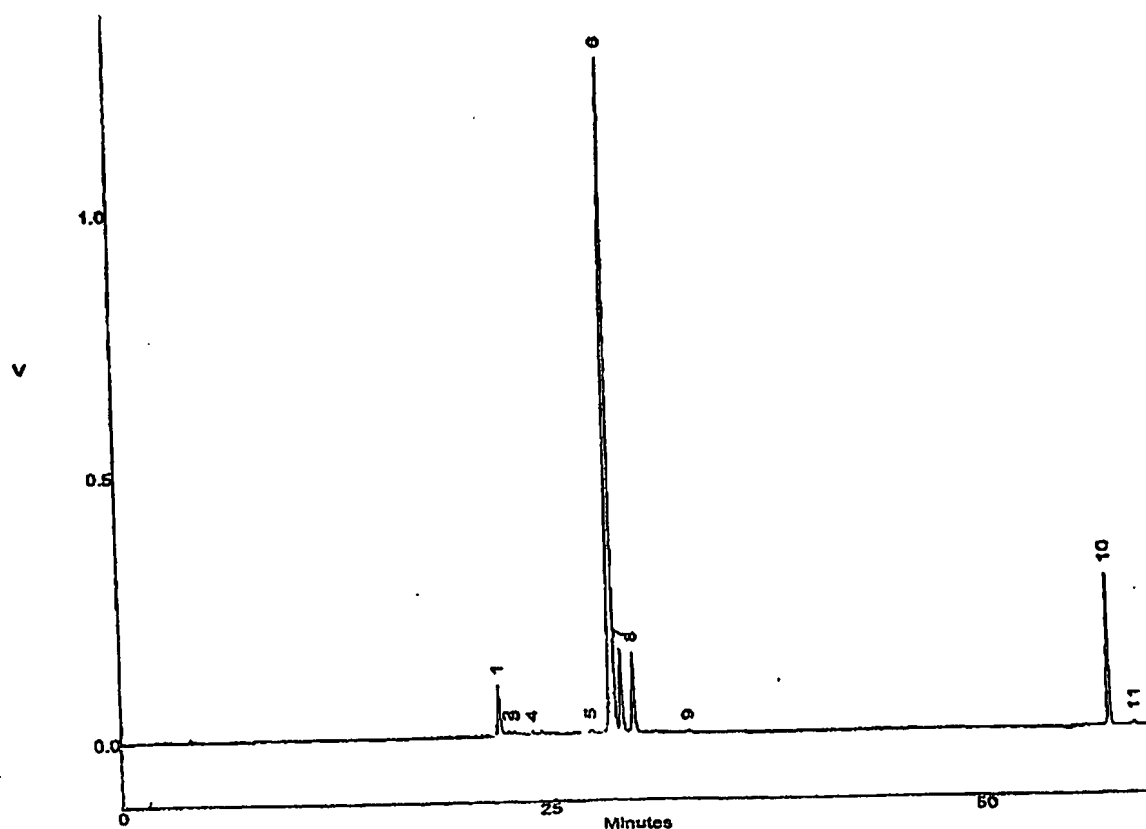


图 4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2005/001621

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC<sup>7</sup> A61K 31/7048, A61P 9/10, A61P 9/06, A61P 3/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC<sup>7</sup> A61K 31, A61P 9, A61P 3

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
CPRS, CNKI (CN)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
WPI, EPODOC, PAJ, BA, MEDLINE, EMBASE, CA dioscin, trillin, gracillin, protodioscin, protogracillin, pseudoprotodioscin, dioscorea panthaica, dioscorea nipponica etc.

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NEW DRUGS AND CLINICAL REMEDIES, 1994, 13(2), Li bogang et al. : "The chemistry of	1-7, 11-13
Y	new drug Di'ao Xinxuekang for treating heart-blood disease." Pp75-76	16-17
Y	Chinese Pharmacopoeia 2000 <sup>th</sup> Part 1. Chemical Industry Publishing Company. Pp441-442	16-17
X	CN1511535 A (CHEN-N) 14.Jul.2004 (14.07.2004) See entire document, especially page 5, line 29 - page 6 line 3.	1-15
X	CN1389469 A (KUNM-N) 08.Jan.2003 (08.01.2003) Example 1	1-15
A	CN1415625 A (TIAN-N) 07.May.2003 (07.05.2003) See entire document.	1-17
A	KR2004077648 A (UYKY-N) 06.Sep.2004 (06.09.2004) WPI / DERWENT abstract	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

23. Dec. 2005 (23.12.2005)

Date of mailing of the international search report

05 · JAN 2006 (05 · 01 · 2006)

Name and mailing address of the ISA/CN  
The State Intellectual Property Office, the P.R.China  
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China  
100088  
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer

Xiao Ying

Telephone No. (86-10) 62085253



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
Information on patent family members

International application No.  
PCT/CN2005/001621

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1511535 A	2004-07-14	NONE	
CN1389469 A	2003-01-08	NONE	
CN1415625 A	2003-05-07	NONE	
KR2004077648 A	2004-09-06	NONE	

## A. 主题的分类

IPC<sup>7</sup> A61K 31/7048, A61P 9/10, A61P 9/06, A61P 3/06

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

## B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC<sup>7</sup> A61K 31, A61P 9, A61P 3

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

CPRS, CNKI (CN)

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用)) WPI, EPODOC, PAJ, BA, MEDLINE, EMBASE, CA 薯蓣皂甙, 延令草次甙, 原薯蓣皂甙, 原纤细皂甙, 伪原薯蓣皂苷, 黄山药, 穿山龙等

## C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	中国新药与临床杂志, 1994,(2), 李伯刚等: "治疗心血管疾病新药地奥心血康的化	1-7,11-13
Y	学"pp 75-76	16-17
Y	中华人民共和国药典 2000 年版一部, 化学工业出版社出版, pp441-442	16-17
X	CN1511535 A (CHEN-N) 14.7 月 2004 (14.07.2004) 全文, 尤其是说明书第 5 页	1-15
	第 29 行至第 6 页第 3 行	/
X	CN1389469 A (KUNM-N) 08.1 月 2003 (08.01.2003) 说明书实施例 1	1-15
A	CN1415625 A (TIAN-N) 07.5 月 2003 (07.05.2003) 全文	1-17
A	KR2004077648 A (UYKY-N) 06.9 月 2004 (06.09.2004) WPI / DERWENT 摘要	1-17

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

\* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&amp;” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

23.12 月 2005 (23.12.2005)

国际检索报告邮寄日期

05.1月 2006 (05.01.2006)

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)

中国北京市海淀区衙门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

授权官员

电话号码: (86-10) 62085253





国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号  
PCT/CN2005/001621

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1511535 A	2004-07-14	无	
CN1389469 A	2003-01-08	无	
CN1415625 A	2003-05-07	无	
KR2004077648 A	2004-09-06	无	